

Tartu Ülikool
Loodus- ja täppisteaduste valdkond
Ökoloogia ja Maateaduste Instituut
Ökofüsioloogia õppetool

Marge Sepp

**Kas optiliselt hinnatud lämmastiku paigutus
 hübriidhaava (*Populus tremula* L. × *P. tremuloides*
 Michx.) lehes sõltub õhu- ja mullaniiskusest?**

Magistritöö

Juhendaja: PhD Pille Mänd

Tartu 2016

Kas optiliselt hinnatud lämmastiku paigutus hübriidhaava (*Populus tremula* L. × *P. tremuloides* Michx.) lehes sõltub õhu- ja mullaniiskusest?

Marge Sepp

Kliimamudelitega on prognoositud, et suurematel laiuskraadidel, sealhulgas Eestis, kasvab tulevikus sademete hulk ja keskmine õhuniiskus. Saamaks aimu, kuidas suurenenud õhuniiskus võiks mõjutada Eesti metsade ökosüsteeme ja seal toimuvaid protsesse, on rajatud FAHM (*Free Air Humidity Manipulation*) eksperiment, kus suurenenud õhuniiskusega manipuleeritakse kiirekasvulisi puid. Antud töö käigus uuriti, milline on suurenenud mulla- ja õhuniiskuse mõju hübriidhaava (*Populus tremula* L. × *P. tremuloides* Michx.) lehtede lämmastiksisaldusele ja kasutamisele. Selleks hinnati suve jooksul muutuseid lehtede klorofüll- ja lämmastiksisalduses ning keskkonnaparameetrites. Tulemustest selgus, et niiskemas õhus kasvanud puudel oli ühes lehes enamasti rohkem klorofüll- ja lämmastiku (mg/cm^2). Samuti leiti, et suurenenud mulla- ja õhuniiskuse tingimustes paigutatakse proportsionaalselt rohkem lämmastiku lehe valguspüügi mehhanismidesse. Samas oli niiskemates tingimustes kasvanud puudel kogu lehestikus summaarselt vähem klorofüll- ja lämmastikku (mg), mis viitab, et suurenenud õhuniiskuse tingimustes on hübriidhaaval kasvuks halvemad tingimused, ning kompenseerimaks vähest fotosünteesivat pinda, tõhustatakse lehtede fotosünteesilist efektiivsust.

Märksõnad: hübriidhaab, õhu- ja mullaniiskus, kliimamuutus, lämmastikukasutus

Title: Does optically measured nitrogen allocation in Hybrid Aspen (*Populus tremula* L. × *P. tremuloides* Michx.) depend on air humidity and soil moisture?

Marge Sepp

At northern latitudes, including Estonia, a rise in atmospheric humidity and precipitation is predicted as a consequence of global climate change. Free Air Humidity Manipulation experimental facility (FAHM) has been established, to study how elevated humidity affects ecosystem processes in Estonian forest. In present study the impact of higher air humidity and soil moisture on nitrogen content and partitioning in leaf of hybrid aspen (*Populus tremula* L. × *P. tremuloides* Michx.) was examined. During summer the changes in leaf chlorophyll and nitrogen content were estimated and a number of environmental parameters were recorded. The results indicated that trees grown in humid air had generally larger nitrogen and chlorophyll content per leaf area (mg/cm²) in one leaf. Furthermore trees which grew in higher air humidity and soil moisture conditions allocated proportionally more nitrogen into light harvesting complexes. At the same time, the total nitrogen and chlorophyll content (mg) in foliage of hybrid aspen was less in humid conditions. Results indicate, that trees grown under elevated air conditions, have inferior conditions for growth and in order to compensate for smaller photosynthesizing area, resources are aimed to increase the photosynthetic efficiency of single leaves.

Key words: *hybrid aspen, air humidity, soil moisture, climate change, nitrogen allocation*

Sisukord

1.	Sissejuhatus	5
1.1.	Lämmastiku ja klorofüllü tähtsus valguspüügi efektiivsusele	5
1.2.	Veerežiimi mõju taimede lämmastiksisaldusele ja valguspüügi efektiivsusele.....	7
1.3.	Lehe lämmastiksisalduse sõltuvus mulla lämmastiksisaldusest	10
1.4.	Töö eesmärgid	12
2.	Materjal ja metoodika.....	13
2.1.	Prooviala iseloomustus	13
2.2.	Lehe klorofüllisisalduse määramine	14
2.3.	Lehe lämmastiksisalduse mõõtmine	15
2.4.	Lehekahjustuste määramine	15
2.5.	Mulla veesisaldus	16
2.6.	Andmeanalüüs.....	16
3.	Tulemused	18
3.1.	Töötamise mõju puude kasvule ja lehtede parameetritele	18
3.2.	Lehe klorofüllü- ja lämmastiksisalduse muutus ajas.....	19
3.3.	Kogu lehestiku klorofüllü- ja lämmastiksisalduse sõltuvus mulla vee- ja lämmastiksisaldusest	21
3.4.	Lehe klorofüllü- ja lämmastiksisalduse sõltuvus mulla vee- ja lämmastiku sisaldusest	22
4.	Arutelu	25
4.1.	Lehe parameetrite sõltuvus töötamisest.....	25
4.2.	Lehe klorofüllü ja lämmastiku muutus ajas.....	25
4.3.	Lehestiku klorofüllü ja lämmastiku sõltuvus mulla vee- ja lämmastiksisaldusest.....	27
4.4.	Lehe klorofüllü ja lämmastiku sõltuvus niiskusest ja mulla lämmastiksisaldusest	28
	Kokkuvõte	30
	Summary	31
	Tänuavaldused.....	32
	Kasutatud kirjandus	33
	LISA 1.....	40

1. Sissejuhatus

1.1. Lämmastiku ja klorofüllü tähtsus valguspüügi efektiivsusele

Lämmastikul on oluline roll valguse püügi ning fotosünteesi efektiivsuses (Kergoat et al., 2008), kuna see on oluline ühend nii valgust püüdvate pigmentide kui ka proteiinide koostises. Näiteks on lämmastik vajalik ühend RuBisCO ehituses, mis on CO₂ siduv ensüüm ning sellest tulenevalt fotosünteesis võtmeensüüm (Pessarakli, 2005). Lisaks on lämmastikul oluline osa ka klorofüllü koostises, mistõttu on lehe klorofüllü- ja lämmastikusisaldus nii massi kui ka pinnaühiku kohta korreleeruvad (Liu et al., 2012; Schlemmer et al., 2013). Klorofüll on taimes olev pigment, mis osaleb valgusenergia neelamise ja keemiliseks energiaks muundamise protsessis (Miidla, 1984). Varjutingimustes paigutavad taimed olemasolevast lämmastikust proportsionaalselt suurema osa klorofüllü, et püüda rohkem valgust kinni (Kimura et al., 1998), kuid võrreldes varjulehtedega võib valguslehtedes lämmastikusisaldus pinnaühiku kohta olla tõenäoliselt kuni poole rohkem (Catoni et al., 2014). Seetõttu paigutatakse valguslehtedes rohkem lämmastikku RubisCO-sse, et suurendada CO₂ püüki (Kimura et al., 1998; Xue et al., 2016). Seejuures on lehes vaja lämmastikku nii valguspüügikompleksidesse kui ka karboksüleerimisvalkudesse (Ripullone et al., 2003). Olukorras, kus süsiniku sidumise efektiivsemaks muutmiseks paigutatakse proportsionaalselt rohkem lämmastikku valguspüügi kompleksidesse võib juhtuda, et kinni püütud footonite energiat ei suudeta ära kasutada, sest limiteerima hakkab karboksüleerimissubstraat. Sellisel juhul võivad taimes tekkida reaktiivsed ühendid, mis hakkavad fotosüsteemi oksüdeerima (Taiz & Zeiger, 2010).

Süsihappegaasi sidumise ja lehe lämmastikusisalduse suhe näitab fotosünteesilise lämmastiku kasutamise efektiivsust (Ingl. *photosynthetic capacity per unit leaf nitrogen*, PNUE). Taimed, millel on suurem PNUE, paigutavad reeglina rohkem lämmastikku fotosünteesiaparaati (Takashima et al., 2004). Taimed, mis kasvavad lämmastikuvaesematel aladel, kasutavad omastatud lämmastikku enamasti efektiivsemalt ära, paigutades vananevatest kudedest lämmastikuvarud ümber elavatesse kudedesse (Haynes, 1986 ; Wang et al., 2013b). Näiteks uute lehepungade tekkimisel viiakse osa lämmastikust puiduosast ja vanadest lehtedest uutesse lehtedesse ning lehe vananedes

viiakse lämmastik sealt uuesti taime teistesse osadesse (Silla & Escudero, 2003). Lehe vananedes hakatakse lehes toitaineid ümber paigutama. Esimesed organellid, kust lämmastikku hakatakse ära viima, on kloroplastid (Wang et al., 2013b).

On ka näidatud, et lämmastikupuuduses oleval taimel on väiksem võime valgus kinni püüda, mis on seotud ka klorofüllil ja lämmastiku suhte (Klorof/N) vähenemisega (Pompelli et al., 2010). Klorof/N suhe lehes näitab, kui palju lämmastikku proportsionaalselt paigutatakse fotosüsteemis valguspüügi kompleksi (Kimura et al., 1998). Mida kõrgem on Klorof/N suhe, seda rohkem lämmastikku taim valguspüüki paigutab ning seda rohkem valgust saab taim kätte ja produtseeritakse rohkem assimilaate ehk fotosünteesi lõpp-produkte, mida kasutatakse taime kasvuks (Pompelli et al., 2010; Taiz & Zeiger, 2010). Klorofüllil ja lämmastiku suhte vähenemine võib olla seotud klorofüllil biosünteesi vähenemisega või klorofüllil lagundamisega. Lämmastikupuuduses kasvavatel taimedel seostub vähenenud valguspüük valguse kahjustusega, kuid neil taimedel, mis kasvavad lämmastiku külluses, võiks vähenenud valguspüük seostuda kaitsega liiga intensiivse valguse eest (Pompelli et al., 2010).

Kuid mitte kõik lehes paiknev lämmastik ei osale fotosünteesis vaid osa sellest kasutatakse ka lehe ehituses (Evans & Poorter, 2001; Takashima et al., 2004). Näiteks taimed, mis idanevad varem, paigutavad rohkem lämmastikku rakuseintesse, panustades selle arvelt vähem RubisCO tootmisesse. Selle tagajärjel kannatab taime fotosünteesiline aktiivsus (Onoda et al., 2004).

Lehe lämmastiksisaldus pinnaühiku kohta korreleerub olenemata taimeliigist tugevalt lehe pindtihedusega (Ingl. *leaf mass per area*, LMA) (Takashima et al., 2004). Suurema LMA-ga taimedes on lämmastikku pinnaühiku kohta rohkem, kuid massi kohta võib lämmastiku lehes vähem olla (Mediavilla et al., 2001). Lehe pindtihedus on hea indikaator taime stressiseisundi jälgimiseks, mis sõltub lehe elueast, toitainete kättesaadavusest ja niiskusest. Suurema pindtihedusega lehed seostuvad tavaliselt paremate kasvutingimustega ning suurema fotosünteesilise aktiivsusega. Üldiselt on näidatud, et paksemates lehtedes on pinnaühiku kohta rohkem klorofüllil, mis teeb need fotosünteesiliselt aktiivsemaks (Jinwen et al., 2009). Näiteks tsitruselistega tehtud katse on näidanud, et taimedel, mis vaevlevad lämmastikupuuduses, on õhemad ja pinnaühiku

kohta madalama klorofüllisisaldusega lehted kui nendel taimedel, mis saavad lämmastikväetist (Bondada & Syvertsen, 2003). Lehe pindtihedust mõjutavad ka teised keskkonnatingimused nagu kiirgusintensiivsus või õhuniiskus. Näiteks lehed, mis on kasvanud kõrgema kiirgusintensiivsuse juures, on suurema pindtihedusega ning sisaldavad pinnaühiku kohta rohkem klorofüllit ning lämmastikku (Bond et al., 1999). Seevastu kõrgendatud õhuniiskusega manipuleerimise tagajärjel võib lehe mass pinnaühiku kohta olla väiksem kui madalama õhuniiskuse tingimustes (Tullus et al., 2012). On välja toodud, et suurenenud õhuniiskusega manipuleerimise tagajärjel võivad puulehed sisaldada vähem lämmastikku ja fosforit, mille tagajärjel väheneb ka lehtede fotosünteesiline aktiivsus. See võib olla mõneta seotud sellega, et transpiratsiooni vähenedes kahaneb ka vee ning sellega ka toitainete vool läbi taime (Tullus et al., 2012).

Kuigi lämmastiku paigutamine fotosünteesi efektiivsust tõstvatesse komponentidesse seostatakse kirjanduses peamiselt valguse kvaliteedi ja kvantiteediga (Kergoat et al., 2008; Pompelli et al., 2010; Ripullone et al., 2003), on üsna vähe kajastust leidnud lämmastiku paigutuse strateegia sõltuvus muudest keskkonnaparameetritest, mis mõjutavad lämmastiku kättesaadavust mullast. Üks oluline keskkonnaparameeter, mis mõjutab mullast toitainete, sealhulgas lämmastikühendite kättesaadavust, on veerežiim, kuna on näidatud, et kõrgendatud õhuniiskuse, põua ning liiga suure mulla veesisalduse tagajärjel väheneb toitainete omastamine mullast (Huang et al., 2003; Nilsen & Orcutt, 1996). Samuti on leitud, et toitainete, eriti lämmastiku puudus mõjutab taime kasvu rohkem kui fotosünteesiline aktiivsus, kuna toitainete puudusel on kogu lehepinnale ja lehe pindtihedusele tugevam mõju (Poorter, 2009).

1.2. Veerežiimi mõju taimede lämmastiksisaldusele ja valguspüügi efektiivsusele

Nii üleujutused kui ka veepuudus tekitavad taimedes abiootilist stressi, pidurdades taimekasvu (Pessarakli, 2005; Taiz & Zeiger, 2010). Üleujutustega kaasneb mullas hapnikupuudus ning kuna juured ja risosoomid on aeroobsed organid, väheneb hapnikupuudusel toitainete omastamine mullast (Huang et al., 2003). Hapnikupuuduse ehk hüpoksia tingimustes väheneb lämmastiksisaldus massi kohta kõigis organites nagu lehed ja juured (Liu et al., 2015), millest võiks eeldada, et tekkinud toitainete puudus mõjutab ka

taime maapealset talitlust, sh. lämmastikukasutuse efektiivsust ja fotosünteesi efektiivsust (Close & Davidson, 2003). Samas on leitud lutserni (*Medicago sativa* L.) näitel, et kuigi liigniisketes tingimustes langeb lehtede klorofüllisisaldus massi kohta ja biomassi produktsioon (Smethurst & Shabala, 2003), siis normaaltingimuste taastudes, muutub ka toitainete tase lehtedes paari nädala jooksul taas normaalseks ning fotosünteesi aktiivsus taastub algsele tasemele (Smethurst, Garnett, & Shabala, 2005). Puude puhul võtab stressitingimustest taastumine kauem aega ning võib kesta poolteist kuud (Percival & Keary, 2008). Jahedas kliimas ja hüpoksia tingimustes ei muutunud kuuskede (*Picea abies* (L.) Karst.) biomassi produktsioon oluliselt, millest järeldati, et liigniiskusega manipuleerimine jahedas kliimas ei mõjuta oluliselt fotosüsteemi efektiivsust. Samas pärast kuu aega kestnud liigniiskusega manipuleerimist oli kontrollringi puudes suurem toitainete kontsentratsioon (N, K, Ca, Mg, Mn ja Zn) kui liigniisketes tingimustes kasvavatel puudel. Sellest võib järeldada, et liigniisketes tingimustes siiski muutub toitainete omastamine või kasutamine taimes (Wang et al., 2013a).

Väiksem toitainete omastamine liigniisketes tingimustes on seotud sellega, et stressitingimustes suleb taim oma õhulõhed, mille tagajärjel väheneb transpiratsioon lehepinnalt (Kupper et al., 2011; Nilsen & Orcutt, 1996; Sellin et al., 2013; Smethurst et al., 2005). Transpiratsioon vähenemise tagajärjel voolab lehest läbi vähem vett, mistõttu omastatakse mullast vähem toitaineid ning samuti väheneb massivool, mille abil liiguvad toitained kasvusubstraadis juurte lähedusse (Sellin et al., 2013). Lisaks õhulõhede avatusele mõjutab transpiratsiooni lehe pind, kuna tavaliselt transpireerivad suuremate lehtedega taimed rohkem kui väikeste lehtedega (Kozłowski & Pallardy, 1997). Seega võiks eeldada, et liigniisketes tingimustes, kus toitainete omastamine on raskendatud, väheneb taime fotosünteesiline aktiivsus, optiliselt mõõdetud lehe klorofüllisisaldus, õhulõhede juhtivus ning lehestiku lämmastikuisalduse protsent (Percival & Keary, 2008).

Erinevalt liigniisketest tingimustest, tekib põua olukorras taimerakkudes veepuudus, mille tagajärjel väheneb turgor ning suletakse õhulõhed (Pessarakli, 2005). Veepuuduse käes väheneb ka raku jagunemine ja venimine ning lehe kasvamine peatub (Taiz & Zeiger, 2010). Põua olukorras ei saada mullast piisavalt vett kätte, mille tõttu väheneb samuti erinevate toitainete nagu nitraadi ja ammoniaagi omastamine mullast (Nilsen & Orcutt, 1996) ning

lämmastikuisalduse protsent lehes (Xu & Zhou, 2006). Kuna veekaotuse vähendamiseks on taim oma õhulõhed sulgenud (Pessarakli, 2005), väheneb taimes ka CO₂ omastamine ning sellest tulenevalt ka fotosünteesi aktiivsus (Ryan & Yoder, 1997). Fotosünteesi aktiivsus on pärsitud, kuna õhulõhede sulgudes väheneb lehtedes CO₂ sisaldus, RuBisCO aktiivsus ja klorofüllisaldus massi kohta (Pessarakli, 2005). Klorofüllisisalduse languse põhjustab fotoinhibitsioon, sest olukorras, kus õhulõhed on suletud, kuid valgus on intensiivne, ei suuda fotosünteesiapparaat kogu valgust ära kasutada ning on oht, et tekivad reaktiivsed hapnikuühendid (Ingl. *reactive oxygen species*, ROS) (Nilsen & Orcutt, 1996). Samas katsed nisuga (*Triticum aestivum* L.) on näidanud, et esimesel paaril päeval, kui taim oli põuaolukorras, klorofüllisaldus lehes suurenes. Kui möödusid veel mõned päevad, vähenes klorofüllisisaldus massi kohta väga vähe ning alles nädala möödudes vähenes klorofüllisisaldus taimes oluliselt (Nikolaeva et al., 2010). Kui mulla veesisaldus on liiga madal, võib ka RuBisCO lagundamine lehes suurenedada. Sellisel juhul võib suurem mulla lämmastikuisaldus põhjustada negatiivset efekti lehe klorofüllis- ja RuBisCO-sisaldusele leevendada (Wang et al., 2012b).

Vähem on teada sellest, kuidas mõjutab taime füsioloogilisi protsesse liigne õhuniiskuse. On välja toodud, et suurenenud õhuniiskuse põhjustab puude kasvu ning ka lehed on sellistes tingimustes väiksemad (Tullus et al., 2014). Relatiivne õhuniiskuse (Ingl. *relative humidity*, RH) mõjutab veeauru rõhkude erinevust (Ingl. *leaf to air vapour pressure deficit* VPD_L) taimelehe sisemuse ja välisõhu vahel. VPD_L on üks olulisemaid transpiratsiooni mõjutavaid tegureid, avaldades mõju õhulõhede sulgumisele ja avamisele (Kozlowski & Pallardy, 1997). Samuti on leitud, et taimedel, mis kasvavad pideva kõrge õhuniiskuse käes, on suuremad õhulõhed ning pikaajaline kõrge õhuniiskusega manipuleerimine mõjutab negatiivselt õhulõhede regulatsiooni (Arve et al., 2013). Taimed, mis on kasvanud kõrge õhuniiskusega tingimustes, sulgevad põua ajal oma õhulõhed palju hiljem, kui veetase lehes on juba väga madal ning leht on juba silmnähtavalt närbunud (Fanourakis et al., 2011). Väga madala õhuniiskuse korral suureneb VPD_L ja auramine lehe pinnalt, mille tagajärjel võib taimes tekkida veedefitsiit (Taiz & Zeiger, 2010). Õhulõhede juhtivus väheneb lineaarselt, kui VPD_L suureneb, et vältida liigset auramist (Nilsen & Orcutt, 1996). Taimed, mis kasvavad pideva kõrge õhuniiskuse käes, kus VPD_L on madal, transpireerivad märgatavalt vähem võrreldes taimedega, mis kasvavad normaalse õhuniiskusega tingimustes (Fanourakis et al., 2011).

Kupper et al. (2011) pakkus välja, et kui õhuniiskuse suurenemise tagajärjel väheneb transpiratsioon piisavalt määral, võib väheneda kiirekasvuliste puude kasv ja produktiivsus. Sest kuigi suure õhuniiskuse korral on õhulõhed lahti, siis väikese VPD_L tõttu on veevoog läbi taime väike ning ei toimu piisavat massivoolu, mille abil tuua toitaineid imijuurte juurde (Cramer et al., 2009). Enamgi veel, kuna transpiratsioon ning veevoog läbi taime on väike, jääb mulda rohkem vett (Kupper et al., 2011; Niglas et al., 2014) ning juhul, kui mulda tekib liigniiskus ja hapnikusisaldus mullas langeb, sulgeb taim oma õhulõhed (Shabala, 2012). Õhuniiskus võib taimi mõjutada suuresti läbi mullaniiskuse, kuid on vähe töid, mis näitaksid õhu- ja mullaniiskuse eraldiseisvaid või kombineeritud mõju lehtede lämmastiksisaldusele.

1.3. Lehe lämmastiksisalduse sõltuvus mulla lämmastiksisaldusest

Mulla veerežiim ja lämmastiksisaldus mõjutab oluliselt taime lämmastiku omastamist mullast. Taimed omastavad mullast mineraliseerunud lämmastikku, kuid suur mullaniiskus võib lämmastiku mineraliseerumist negatiivselt mõjutada. Näiteks võib liigne veesisaldus pärssida otseselt mikroobide elutegevust. Samuti väheneb märjas mullas hapnikusisaldus, mis omakorda inhibeerib mikroobide elutegevust (Haynes, 1986).

Taime lämmastikuvajadus ja omastamine mullast sõltub taime kasvust ja arengust ning mullalämmastiku kättesaadavusest. Taime lämmastikuvajadus on erinev sõltuvalt taime lehtede ja juurte arengufaasist (Silla & Escudero, 2003) ning vananemisest (Kunkle et al., 2009). Lisaks mõjutavad lämmastiku omastamist mullast erinevad keskkonnafaktorid nagu näiteks vee kättesaadavus mullast, kuna juurte lämmastiksisaldus massi kohta korreleerub juurte veesisaldusega (Silla & Escudero, 2003).

Taime kasvuks vajalik lämmastik omastatakse põhiliselt juurte kaudu kas nitraadina (NO_3^-) või ammooniumina (NH_4^+) ning peamiselt jõuab lämmastik juurteni massivoolu teel (Miller & Cramer, 2005). Taimed, mis kasvavad madalama pH-ga alal ja halvematel muldadel, omastavad lämmastikku pigem ammooniumina, kuid taimed, mis kasvavad kõrgema pH-ga alal ja hapnikurikkamatel muldadel, omastavad lämmastikku pigem nitraadina (Maathuis, 2009). Ammooniumil on võrreldes nitraadiga kuni 100 korda väiksem difusioonikoefitsient, mis tähendab, et ammoonium ei leostu nii kergesti mullast välja, kuid

on sellest tulenevalt ka taimedele raskemini omastatav (Miller & Cramer, 2005). Seda tõestab ka katse, kus lämmastikupuuduses olevatele taimedele lisati kas nitraati või ammoniumi. Taimed, millele lisati NO_3^- , vähendasid lämmastikupuudusest tulenevaid sümptomeid kiiremini kui taimed, kellele lisati NH_4^+ (Madhavan et al., 2011).

Puu kasvule mõjub positiivselt, kui mullas lämmastiku kontsentratsiooni suurendada natuke, kuid väga suur mulla lämmastiku kontsentratsiooni tõstmine ei mõju taimedele sama efektiivselt (Högberg et al., 2006). Seejuures taime kasvu positiivne mõju võib avalduda suurenenud lehepinnas mitte suuremas fotosünteesilises efektiivsuses (Wang et al., 2012a). Näiteks lämmastiku lisamine kasvukohta suurendas hübriidhaava lehe lämmastikuisaldust lehemassi kohta ligi 20%, mille tagajärjel suurenes ka maapealse biomassi kasv. Kasvuperioodi lõppedes hakkas lämmastikuisalduse protsent puude lehtedes vähenema ning sellega seoses vähenes ka fotosünteesiline aktiivsus (Häikiö et al., 2007). Lehise (*Larix gmelinii* Rupr.) okaste lämmastikuisaldus massi kohta on positiivses korrelatsioonis okaste suuruse, puu kasvu ja mulla lämmastikuisaldusega ning sõltub ka juurte absorbeerivast pinnast (Liang et al., 2014). Mulla lämmastikuisaldust mõjutab teisalt ka orgaanilise aine lagunemiskiirus, mida omakorda mõjutab mulla temperatuur, niiskuse ja O_2 kontsentratsiooni. Väga niiskes mullas täidab vesi mullapoorid ning O_2 surutakse mullast välja (Haynes, 1986).

Päevalilledega (*Helianthus annuus* L.) tehti katse, kus osad taimed kasvasid poolteist kuud lämmastikupuuduses ja teised kasvasid tavatingimustes, kus lämmastikku oli mullas piisavalt. Need taimed, mis vaevlesid lämmastiku puuduse käes, näitasid varem vananemise märke. Samuti oli sellistel taimedel väiksem lehestik ja väiksem valgusisaldus. Mõlemas töötluses vähenes taime lehes fotosünteesiline aktiivsus kiiremini kui klorofüllisisaldus massi kohta (Agüera et al., 2010). Küll aga on vähe teada kuidas mulla lämmastikuisaldus ja niiskuse režiim kombineerituna mõjutavad taime fotosünteesi, klorofüllisisaldust ja lämmastiku kasutust lehtedes (Wang et al., 2012b).

1.4. Töö eesmärgid

Kliimamudelitega on prognoositud, et suurematel laiuskraadidel, sealhulgas Eestis, kasvab tulevikus sademete hulk ja keskmine õhuniiskus (IPCC, 2013). Saamaks aimu, kuidas suurenenud õhuniiskus võiks mõjutada Eesti metsade olukorda, on rajatud FAHM (*Free Air Humidity Manipulation*) eksperiment, kust on kogutud kõik antud töös kasutatud andmed. Varasemalt on FAHM katsetes leitud, et suurenenud õhuniiskuse tõttu muutub lämmastiku paigutus kogu puu ulatuses (Tullus et al., 2012). Samuti on leitud, et taimed on võimelised suurenenud õhuniiskuse tingimustes hoidma oma õhulõhed avatuna, milles tulenevalt ei teki taimes CO₂ puudust (Niglas et al., 2014).

Antud töö eesmärk on välja selgitada, kuidas suurenenud õhuniiskuse ja erineva veerežiimi puhul muutub lehe lämmastikuisaldus. Sellest tulenevalt on püstitatud järgmised hüpoteesid:

- Õhu- ja mullaniiskus mõjutavad lehtede lämmastiku- ja klorofüllisisaldust ning kasvuperioodi jooksul on lämmastiku paigutuse muutused lehes mõjutatud kõrgemast õhuniiskusest.
- Optimaalse mulla veesisalduse puhul paigutatakse rohkem lämmastikku fotosünteesiaparaadi valguspüügi kompleksidesse.
- Mulla lämmastikuisaldus mõjutab oluliselt erinevates niiskusežiimides kasvavate taimede lämmastikukasutuse strateegiat.

2. Materjal ja metoodika

2.1. Prooviala iseloomustus

Välitööd toimusid 2014. aasta suvel juulis ja augustis Tartumaal Meeksi vallas Rõka külas ($58^{\circ}14'N$, $27^{\circ}18'E$, kõrgus merepinnast 40-48 m) metsaökosüsteemi õhuniiskusega manipuleerimise katsealal (FAHM). Antud piirkonna pikaajaline keskmine sademete hulk on 650 mm, keskmine temperatuur juulis on $17.0^{\circ}C$ ja jaanuaris $-6.7^{\circ}C$. Vegetatsiooniperiood kestab tavaliselt aprilli keskpaigast kuni oktoobrini.

FAHM eksperiment koosneb 8 katsealast mõõtmatega 14×14 m. Igas katseringis kasvab 196 puud, millest pooled on arukased ja pooled hübriidhaavad. Antud magistritöö raames olid uurimisobjektiks hübriidhaavad. Eksperimendialal kasvavate puude vahekaugus on 1 m. Õhuniiskuse kunstlik suurendamine toimub maist septembrini neljas katseringis (H1, H2, H3, H4), ülejäänud neli katseringi moodustavad kontrollringid (C1, C2, C3, C4).

Õhuniiskuse suurendamiseks niisutusringides pihustatakse vesi läbi peente düüside udulaadseteks sademeteks ning kantakse loodusliku tuule ja ventilaatori abil läbi kogu katseringi. Niisutatud õhu liikumine katseringide sisse toimub selleks loodud arvutiprogrammi vahendusel. Viimane juhib õhujaotusklappide tööd sõltuvalt tuule suunast, kiirusest ning "välisõhu" niiskusesisaldusest. Keskmine niisutamise efektiivsus on 6-7%.

Töös kasutatud mulla lämmastiksisaldused (Tabel 1) on mõõdetud Kjeldahl meetodil (Bradstreet, 1965). Antud meetodil leitakse mulla üldlämmastiksisaldus. Lisaks on töös kasutatud ka katsealal mõõdetud lehe pindtihedus ja tüve ruumala. Lehe pindtihedus on lehe kuivmassi ja pindala suhe. Lehe kuivmass leitakse kaalumise teel pärast kuivatamist $60^{\circ}C$ juures. Tüve ruumala on leitud tüve diameetri ruudu ja kõrguse korrutisena (D^2H).

Tabel 1. 2014. aasta suvel mõõdetud mullalämmastiku ja mulla veesisalduse keskmised väärtused, kus C1-C4 tähistavad kontrollringe ning H1-H4 niisutusringe.

Katseringid	Mullalämmastik (%) Juuli kuus	Mulla veesisaldus väliveemahutavusest (%) Juuli kuus
C1	0,12	72,63
C2	0,11	70,49
C3	0,13	72,84
C4	0,15	62,96
H1	0,12	67,67
H2	0,13	76,75
H3	0,17	61,76
H4	0,11	73,09
Kontroll keskmine	0,127	69,73
Niisutus keskmine	0,133	69,82

2.2. Lehe klorofüllisisalduse määramine

Lehe klorofüllisisalduse määramiseks pinnaühiku kohta, valiti igast ringist 6 puud ning igalt puult 6 lehte, mis märgistati. Puud valiti süstemaatiliselt, et need paikneksid ringi keskel vett pihustavatest düüsidest eemal. Iga märgistatud lehe kohta tehti lehe erinevatest kohtadest 3 mõõtmist klorofüllimõõtjaga SPAD-502 (*Spectrum Technologies, Inc.*), ning tulemused keskmistati lehe kohta. Mõõtmisi teostati perioodil 08.07.2014-14.08.2014 üks kord nädalas.

Klorofüllimõõtjaga saadud empiiriliste klorofüllisisalduse hinnangute kvantifitseerimiseks kalibreeriti lehtede SPAD-i näidud N, N'-dimetüülformamiidi (DMF) meetodil (Porra et al., 1989) tehtud lehe klorofüllisisalduse mõõtmistega. Selleks koguti katse lõppedes igalt katsealalt 10 lehte, millel määrati keskmine SPAD väärtus. Seejärel võeti lehtedelt korgipuuriga 1cm läbimõõduga lehekettaid, mida säilitati klorofüllil lagunemise vältimiseks -80C° juures sügavkülmas. Kogutud proove analüüsiti laboris, kus lehekettale lisati 3 ml N, N'-dimetüülformamiidi, et klorofüll lehekettast välja lahustada. Klorofüllisisalduse saamiseks määrati lahuse optiline tihedus kasutades spektrofotomeetrit AvaSpec 2048-2 (*Avantes BV*). Saadud tulemuste põhjal arvutati lahuse optiline läbipaistvus ning selle põhjal valguse neeldumise väärtused lahuses. Kasutades Porra et al. (1989) valemeid leiti lahuse

klorofüllisisaldus ($\mu\text{g/ml}$) ning seejärel arvutati lehe klorofüllisisaldus lehe pinnaühiku kohta (mg/cm^2) kasutades valemit (1):

$$\text{Klorof (mg/cm}^2\text{)} = \frac{\left(\frac{\text{Klorof (}\mu\text{g/ml)} }{1000} * (\text{vol ml}) \right)}{\text{pindala (cm}^2\text{)}}, \text{ kus} \quad (1)$$

Klorof ($\mu\text{g/ml}$) märkis Porra et al. (1989) valemi alusel saadud lahuse klorofülliväärtused, (vol ml) tähistas lahuse kogust milliliitrites, ning (pindala cm^2) tähistas klorofüllilahusesse pandud leheketta pindala (cm^2). Seejärel kasutati regressiooni teist järku polünoomiga kirjeldamaks lehe SPAD väärtuste ja spektrofotomeetriliselt mõõdetud klorofüllisisalduse vahelist seost. Saadud regressioonivõrrandit kasutades anti ülejäänud andmestiku SPAD-väärtustele vastav klorofüllisisalduse hinnang.

2.3. Lehe lämmastikuisalduse mõõtmine

Lehe lämmastiku kontsentratsiooni määramiseks pinnaühiku kohta koguti igalt katsealalt 10 lehte ja neilt 1cm läbimõõduga lehekettaid, mis võeti samadelt lehtedelt, millelt klorofüllil proovidki. Kogutud lehekettad kuivatati kuivatuskapis 60C° juures. Mõõtmisi teostati perioodil 08.07.2014-14.08.2014 üks kord nädalas. Proove analüüsiti hiljem laboris elementanalüsaatoriga Thermo Finnigan Flash HT Plus (*Thermo Scientific*), kus tahke proov muudeti gaasiks põletamise teel. Kasutades regressioonivõrrandit anti ülejäänud andmestiku SPAD-väärtustele vastav lämmastikuisalduse hinnang.

2.4. Lehekahjustuste määramine

Lehekahjustuste määramiseks valiti igast katseringist juhuslikult 20 puud ning igalt puult valiti üks oks, millel loendati kõik lehed. Seejärel loendati üle kahjustatud lehed ning ka terved lehed, mille põhjal arvutati hiljem kahjustatud lehtede osakaal protsendina. Lehekahjustusi hinnati mitterohelise pinna protsendina kogu lehepinnast. Kuni 30% kahjustusega leht loeti terveks. Mõõtmisi teostati perioodil 10.07.2014-30.07.2014.

2.5. Mulla veesisaldus

Perioodil 02.07.2014-28.07.2014 koguti kord nädalas igast katseringist 15 cm sügavuselt mullaproovid. Kogutud proovid kaaluti laboris ning seejärel küllastati need veega, et teada saada mulla väliveemahutavust ehk mulda jääva veesisaldust, kui gravitatsioonivesi on ära valgunud ja vee aurumine mullapinnalt on takistatud. Selleks kaeti proovid pealt kinni, et vältida aurumist ning kui proovid olid veega küllastunud, kaaluti need laboris. Mulla kuivmassi leidmiseks pandi proovid mõneks päevaks kuivatuskappi 60C° juurde ning samuti kaaluti.

Kasutades algset mullaproovi massi ja kuivatatud proovi massi arvutati mulla veeprotsent grammi kuivaine kohta ning kasutades küllastatud ja kuivatatud proovide andmeid leiti mulla väliveemahutavus. Saadud andmete põhjal leiti mulla veesisalduse protsent väliveemahutavusest.

2.6. Andmeanalüüs

Katse käigus kogutud algandmete sisestamiseks ning vajalike arvutuste tegemiseks on kasutatud programmi MS Excel 2013 (*Microsoft Corp.*, USA). SPAD andmete kalibreerimisel on kasutatud regressiooni teist järku polünoomiga ning ülejäänud SPAD andmetele arvutati teoreetiline klorofüllisisalduse väärtus kasutades saadud regressioonivõrrandit.

Statistiliseks andmetöötluks on kasutatud programmi Statistica 7.1 (*StatSoft Inc.*, USA). Andmete normaaljaotuse kontrollimiseks kasutati kirjeldava statistika meetodit.

Lehe ja lehestiku parameetrite nagu pindtiheduse (g/cm^2), pindala (cm^2) ja lehekahjustuse (%) sõltuvust töötluks on analüüsitud kasutades T-testi.

Töötluks (kontroll vs niisutus) mõju analüüsimiseks on kasutatud dispersioonianalüüsi ANOVA *Repeated Measures* statistilist meetodit koos T-testiga, kui töötluks oli normaaljaotusega. Lisaks kasutati mitteparameetrilist *Mann-Whitney* testi. Viimast kasutati juhul, kui töötluks ei olnud normaaljaotusega 08. juuli ja 15. juuli klorofüllil ja lämmastiku andmete puhul.

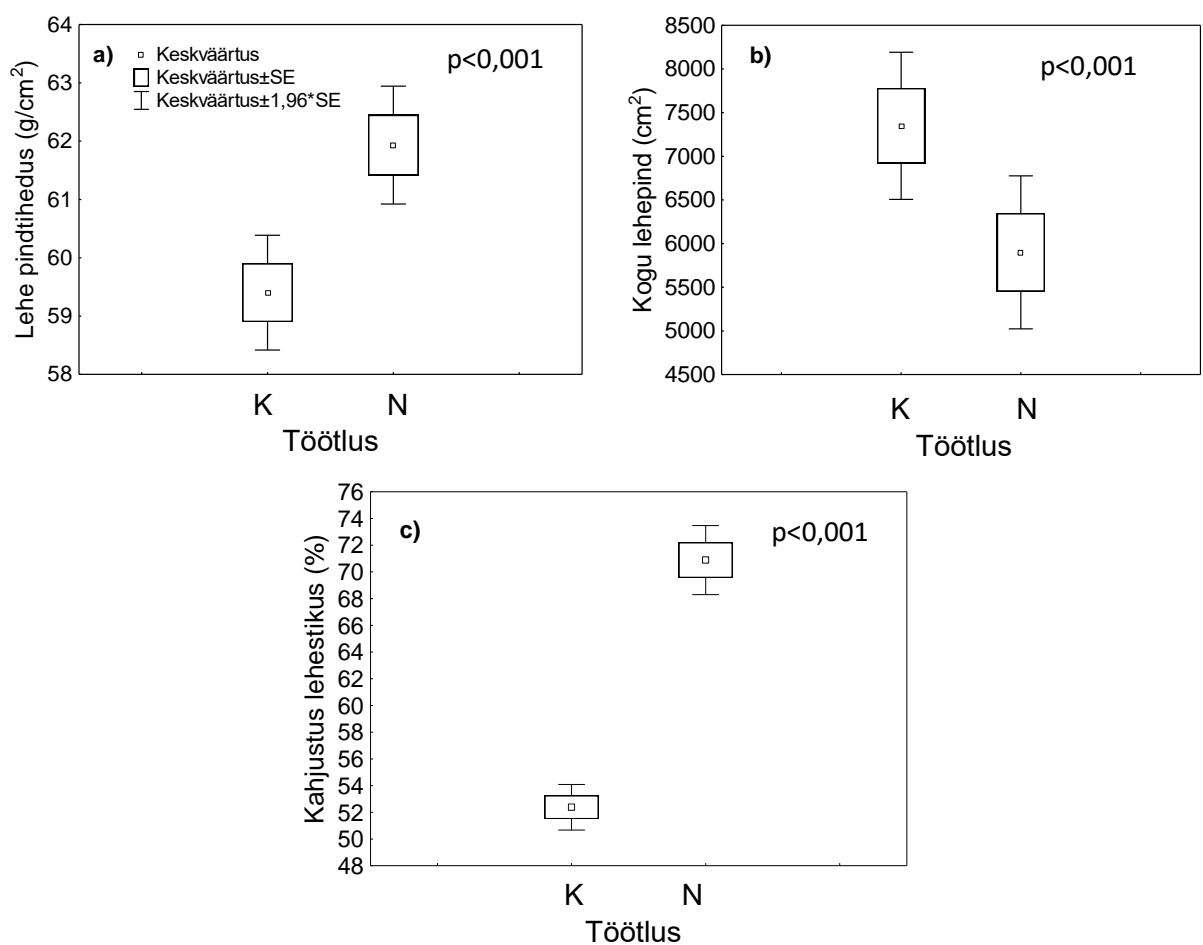
Lehe klorofüll- ja lämmastiksisalduse seoste leidmisel mulla veesisalduse ja mulla lämmastiksisaldusega kasutati *Generalized Linear/Nonlinear Model* meetodit. Kui selgus, et seos on olemas, kasutati regressioonanalüüsi koos regressioonikordajatega. Töös mitmel pool esitatud R^2 ehk determinatsioonikordaja näitab tunnuste vahelise seose tugevust.

3. Tulemused

3.1. Töötluste mõju puude kasvule ja lehtede parameetritele

Niisutusringides oli juuli keskel suurem LMA kui kontrollringides ($p < 0,001$; Joonis 1). Lehtede keskmine LMA oli kontrollringides $59,4 \text{ g/cm}^2$ ja niisutusringides $61,9 \text{ g/cm}^2$. Samas oli niisutusringides suurem hulk lehti kahjustatud kui kontrollringides ($p < 0,001$). Niisutusringides oli keskmiselt kahjustatud 71% ning kontrollringides 52% lehtedest (Joonis 1).

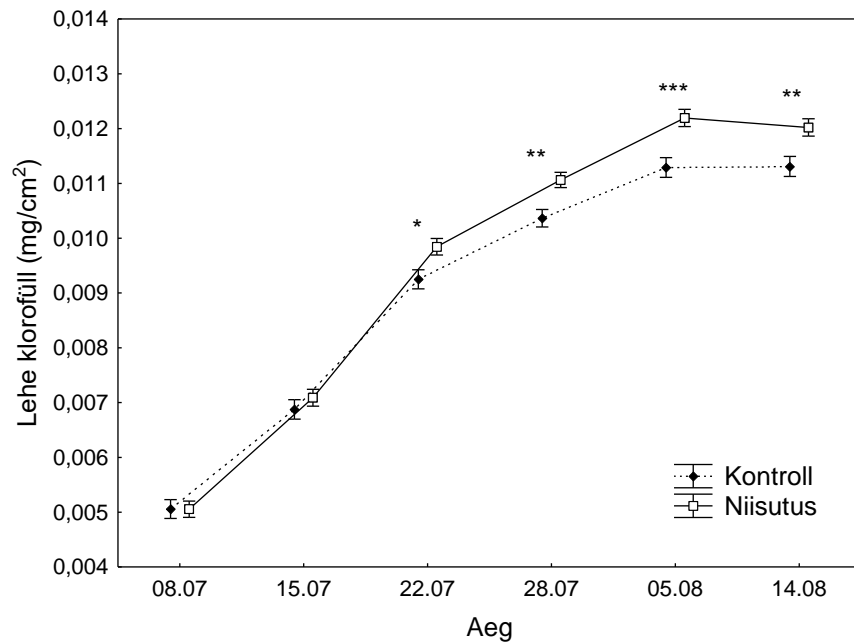
Kontrollringide puudel oli keskmiselt suurem lehestiku pind puu kohta ($p < 0,001$). Kontrollringides oli puudel keskmiselt lehestiku pind 7350 cm^2 ja niisutusringides keskmiselt 5900 cm^2 (Joonis 1). Puu tüve ruumala (D^2H) töötluste vahel oluliselt ei erinenud ($p > 0,05$).



Joonis 1 Töötlustest tulenevad muutused a) lehe pindtiheduses (g/cm^2); b) kogu lehestiku pindalas (cm^2) ja c) lehekahjustuste osakaalus (%). SE kirjeldab standardvea hinnangut; p näitab olulisuse tõenäosust

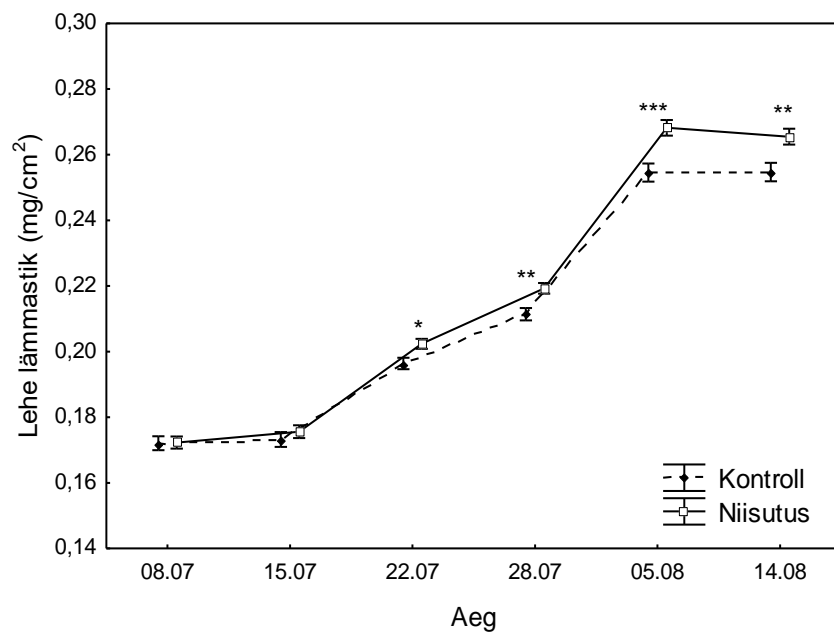
3.2. Lehe klorofüll- ja lämmastiksisalduse muutus ajas

Klorofüllisisaldus pinnaühiku kohta suurenes hübriidhaava lehtedes suve jooksul (Joonis 2). Juuli alguses töötluste vahel olulist erinevust ei esinenud, kuid alates 22. juulist suurenes niisutusringide lehtedes klorofüllisisaldus oluliselt võrreldes kontrollringidega. Lehe klorofüllisisaldus (mg/cm^2) saavutas oma maksimumi augusti alguses.



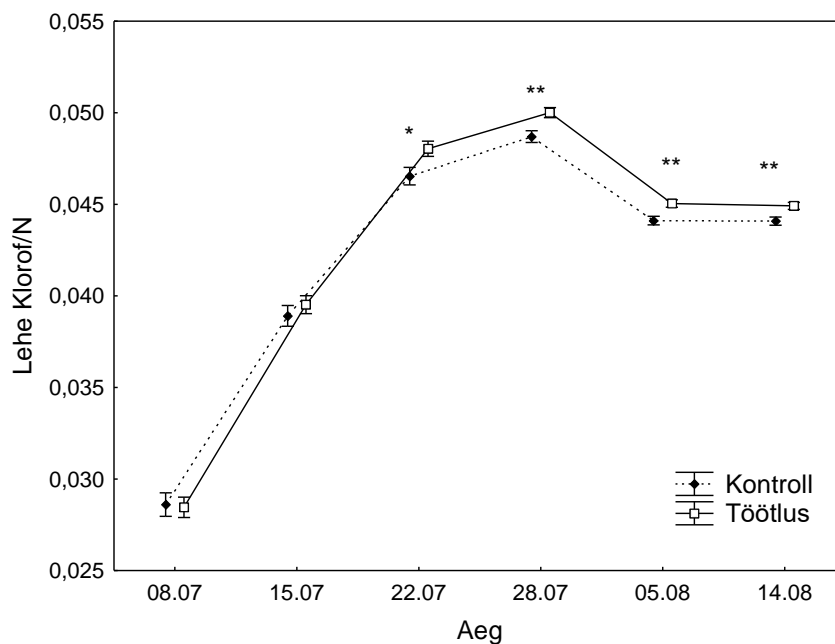
Joonis 2 Lehe klorofüllisisalduse muutus ajas. Statistiliselt olulised erinevused märgitud joonisele tärniga ($p < 0,05^*$; $p < 0,01^{**}$ ja $p < 0,001^{***}$); punktid joonisel on keskvaärtused \pm standardvea hinnang

Sarnaselt lehe klorofüllisisaldusele suurenes suve jooksul lehes ka lämmastiksisaldus pinnaühiku kohta ning alates 22. juulist suurenes niisutusringide lehtedes lämmastiksisaldus (mg/cm^2) oluliselt võrreldes kontrollringidega. Suurim lehe lämmastiksisaldus pinnaühiku kohta oli augusti alguses, mil töötluste vahel esines samuti suurim erinevus (Joonis 3).



Joonis 3 Lehe lämmastiksisalduse muutus ajas. Statistiliselt olulised erinevused on märgitud joonisele tärniga ($p < 0,05^*$; $p < 0,01^{**}$ ja $p < 0,001^{***}$); punktid joonisel on keskvaärtused \pm standardvea hinnang

Lehe klorofüllil ja lämmastiku suhe suurenes suve jooksul kuni 28. juulini, hakates seejärel langema. Klorof/N suhe oli niisutusringides suurem alates 22. juulist püsides nii augusti teise pooleni (Joonis 4).

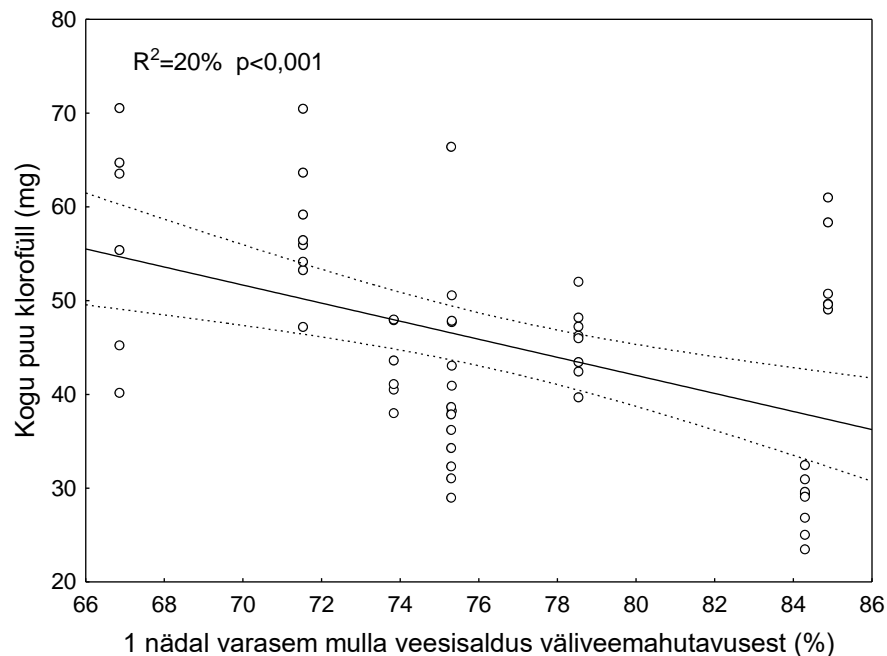


Joonis 4 Lehe klorofüllil ja lämmastiku suhte (Klorof/N) muutus ajas. Statistiliselt olulised erinevused märgitud joonisele tärniga ($p < 0,05^*$; $p < 0,01^{**}$; $p < 0,001^{***}$); punktid joonisel on keskvaärtused \pm standardvea hinnang

3.3. Kogu lehestiku klorofüll- ja lämmastiksisalduse sõltuvus mulla vee- ja lämmastiksisaldusest

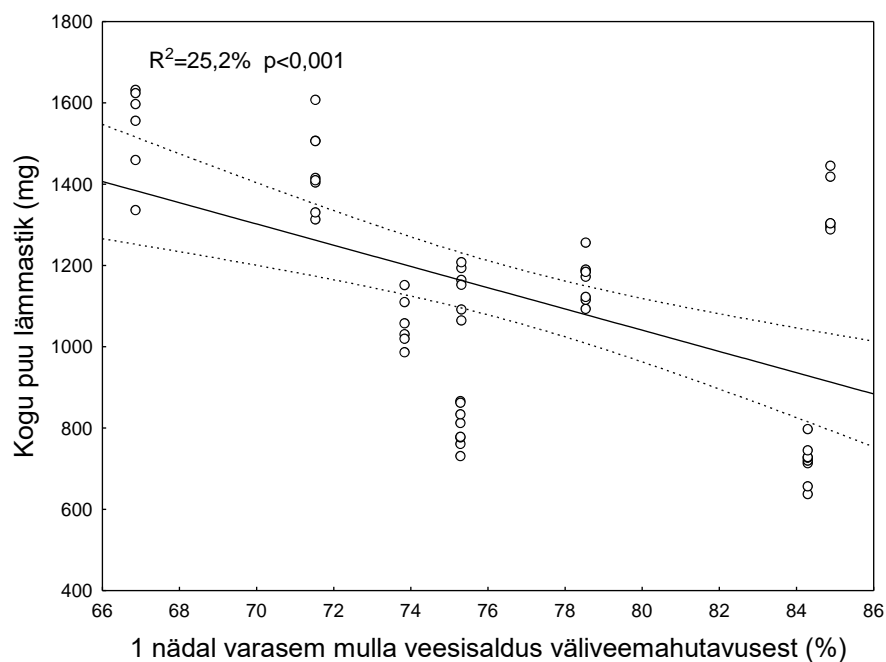
Vaadeldes hübriidhaava lehestikku, oli kontrollringides lehestikus (mg) keskmiselt rohkem klorofüllit puu kohta ($p=0,02$) kui niisutusringides. Samuti oli kontrollringide lehestikus keskmiselt rohkem lämmastikku (mg) puu kohta ($p<0,001$).

Lehestiku klorofüllisisaldus puu kohta (mg) sõltus mulla veesisaldusest ($p=0,007$), kuid seos töötuse ja mulla lämmastiksisaldusega ei olnud oluline ($p>0,05$). Väiksema mulla veesisalduse juures oli lehestikus klorofüllit enim, suurema mullaniiskuse juures klorofüllisisaldus (mg) lehestikus puu kohta vähenes (Joonis 5).



Joonis 5 Kogu puu klorofüllisisalduse sõltuvus mulla veesisaldusest. Joonisel on regressioonisirge 95% usalduspiiriga; R^2 on determinatsioonikordaja; p näitab olulisuse tõenäosust

Hübriidhaava lehestiku lämmastiksisaldus puu kohta (mg) sõltus mulla veesisaldusest ($p<0,001$), kuid seos töötuse ja mulla lämmastiksisaldusega ei olnud oluline ($p>0,05$). Sarnaselt klorofüllisisaldusele oli lehestikus suurim lämmastiksisaldus puu kohta madalaima mulla veesisalduse juures ning suurema veesisalduse juures langes ka lämmastiksisaldus lehestikus (Joonis 6).



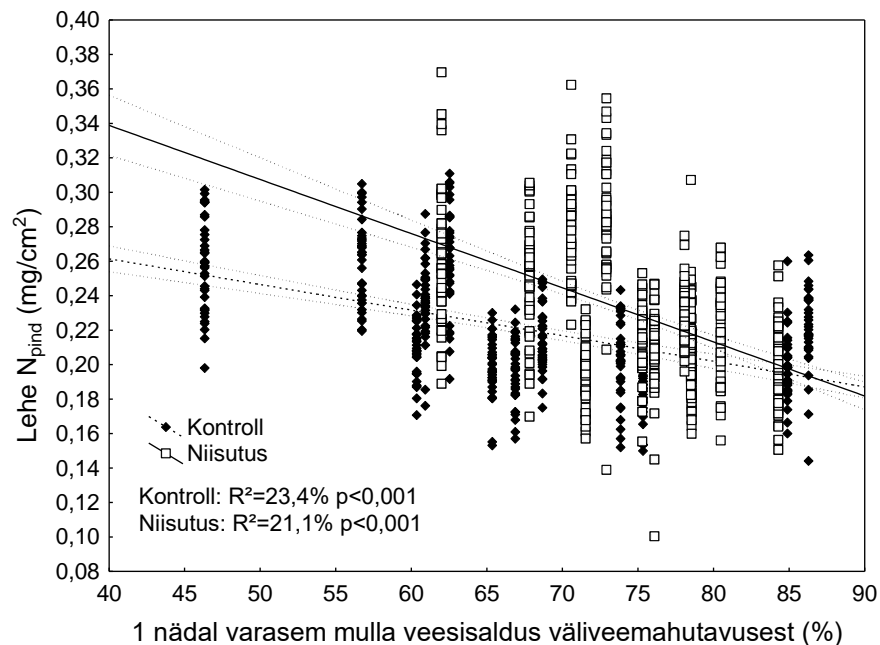
Joonis 6 Kogu puu lehtede lämmastiksisalduse sõltuvus mulla veesisaldusest. Joonisel on regressioonisirge 95% usalduspiiriga; R^2 on determinatsioonikordaja; p näitab olulisuse tõenäosust

3.4. Lehe klorofüll- ja lämmastiksisalduse sõltuvus mulla vee- ja lämmastiku sisaldusest

Antud katses sõltus lehe klorofüllisisaldus pinnaühiku kohta (mg/cm^2) vähesel määral nii mulla vee- kui ka lämmastiksisaldusest ning töötlustest ($p < 0,001$). Suurema mulla lämmastiksisalduse juures oli lehe klorofüllisisaldus pinnaühiku kohta niisutusringides samuti kergelt suurem ($p < 0,001$). Kontrollringides oli samuti seos lehe klorofüllisisalduse (mg/cm^2) ja mulla lämmastiksisalduse vahel oluline ($p = 0,019$), kuid väga nõrk (Lisa 1). Kui mulla veesisalduse protsent väliveemahutavusest oli kõrge, oli keskmine lehe klorofüllisisaldus pinnaühiku kohta nii kontroll- kui ka niisutusringides väiksem ($p < 0,001$).

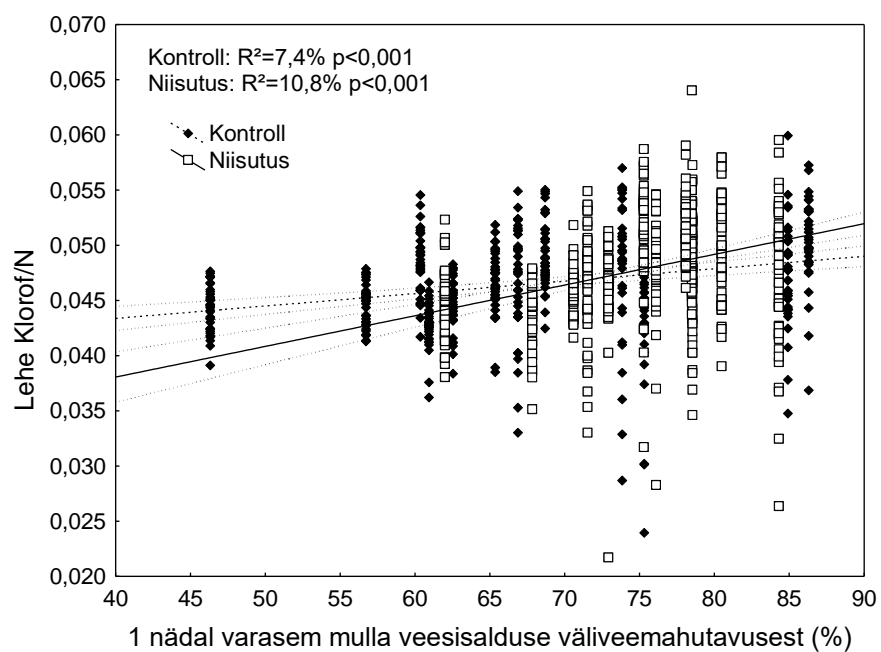
Lehe lämmastiksisaldus pinnaühiku kohta (mg/cm^2) sõltus samuti nii mulla vee- kui ka lämmastiksisaldusest ning töötlustest ($p < 0,001$), kuid mulla lämmastiksisalduse mõju lehe lämmastiksisaldusele seos oli väga nõrk või puudus üldse. Kontrollringides ei olnud olulist seost lehe ja mulla lämmastiksisalduse vahel ($p > 0,05$). Niisutusringides oli seos lehe lämmastiksisalduse ja mulla lämmastiksisalduse vahel nõrk, aga oluline ($p < 0,001$) ning mulla lämmastiksisalduse suurenedes lehe lämmastiku keskmine sisaldus tõusis veidi. Nii

kontroll- kui ka niisutusringides oli lehe lämmastikuisalduse seos mulla veesisaldusega (Joonis 7) oluline ($p < 0,001$) ning mõlema töötluise puhul hakkas mulla veesisalduse suurenedes langema keskmine lehe lämmastikuisaldus.



Joonis 7 Lehe lämmastikuisalduse seos üks nädal varasema mulla veesisaldusega. Joonisel on regressioonisirged koos 95% usalduspiiridega; R^2 on determinatsioonikordaja; p näitab olulisuse tõenäosust

Katsetulemused näitasid, et lehe klorofüll ja lämmastiku suhe sõltus nii mulla vee- (Joonis 9) kui ka lämmastikuisaldusest ning töötluisest ($p < 0,001$), kontrollringides oli Klorof/N suhte ja mulla lämmastikuisalduse vahel vaevast tuvastatav seos ($p = 0,048$). Niisutusringides oli samuti seos mulla lämmastikuisaldusega nõrk, kuid oluline ($p < 0,001$) (Lisa1) ning suurema mulla lämmastikuisalduse juures suurenes ka Klorof/N suhe natukene kõrgem. Lehe klorofüll ja lämmastiku suhe sõltus mulla veesisaldusest nii kontroll- kui niisutusringides ($p < 0,001$). Kui mulla veesisalduse protsent väliveemahutavusest oli suur, oli ka Klorof/N suhe lehes suurem (Joonis 8).



Joonis 8 Lehe klorofülli ja lämmastiku suhte (Klorof/N) sõltuvus mulla veesisaldusest. Joonisel on regressioonisirged koos 95% usalduspiiridega; R^2 on determinatsioonikordaja; p näitab olulisuse tõenäosust

4. Arutelu

4.1. Lehe parameetrite sõltuvus tööstlusest

Niiskemad tingimused mõjutasid FAHM katsealal kasvavate hübriidhaabade lehtede pindtihedust (g/cm^2) ja lehestiku pindala (cm^2). Varasemalt on FAHM katsealal tehtud töödes näidatud, et niisutusringides on väiksem lehemass pinnaühiku kohta (LMA) kui kontrollringides (Tullus et al., 2012; Tullus et al., 2014). Antud töö tulemustes selgus, et niisutusringide lehed olid 2014. aasta suvel suurema pindtihedusega, kuid kogu lehestiku pindala puu kohta oli niisutusringides väiksem kui kontrollringides. Kogu lehestiku väiksem pind niisutusringides võis tuleneda väiksematest lehtedest niisutusringi puudel (Tullus et al., 2014), aga ka väiksemast lehtede arvust. Üheks põhjuseks, miks niisutusringides oli LMA suurem, võis olla see, et antud töös on arvestatud pikkvõrse erinevas vanuses lehti, kuid eelnevates töödes on LMA hinnangud tehtud lühivõrsete vanemate lehtede põhjal (Tullus et al., 2012). Antud katse puhul oli tõenäoliselt määravaks faktoriks lehe pindtiheduse kujunemisel ka see, et leheservad olid kahjustunud erinevate patogeenide ning võimalik ka, et liigniiskuse tõttu mullas ja õhus. Sellest tulenevalt võis kasv laiusesse olla pärsitud ning leht sai kasvada vaid paksusesse. Seega võib arvata, et niisutusringi keskmiselt suurema pindtihedusega lehed seostuvad stressivastusega niiskematele tingimustele või patogeenide kahjustustele. Liigniisketele tingimustele niisutusringides viitab ka väiksem lehestiku pindala puu kohta.

4.2. Lehe klorofüll ja lämmastiku muutus ajas

Klorofüll- ja lämmastiksisaldus on üldjuhul korreleeruvad ning kui lehe lämmastiksisaldus pinnaühiku kohta suureneb, muutub ka klorofüllisisaldus pinnaühiku kohta suuremaks (Schlemmer et al., 2013). Ka antud töö katsetulemustest selgus, et lehe klorofüll ja lämmastiku sisaldus (mg/cm^2) suurenes ajas mõlema tööstluse puhul. Juuli alguses oli klorofüll ja lämmastiku kontsentratsioon nii niisutus- kui ka kontrollringides väikseim ning tööstluste vahel ei olnud olulisi erinevusi. Juuli alguses olid lehed veel väikesed ning vähe aega kõrgenenud õhuniiskuse käes kasvanud, mistõttu ei olnud niisutuse mõju veel eristatav. Ka varasemalt on näidatud, et juuli alguses on lämmastiku sisalduse protsent lehes väikseim, kuna taimed on alles kasvu algfaasis (Bermudez & Retuerto, 2014). Samuti

oli juuli alguses mullas suur veesisaldus, mille tõttu võis toitainete omastamine mullast olla pärsitud (Kupper et al., 2011; Sellin et al., 2013).

Juuli teisel poolel suurenes keskmine klorofüll- ja lämmastiksisaldus (mg/cm^2) lehes kõrgendatud õhuniiskusega alal jõudsamalt. See võis olla põhjustatud sellest, et niisutusringides oli nii puu kui lehe tasemel keskmiselt väiksem lehtede kogupind, mistõttu üritati oma pindalalt väiksemaid või arvuliselt vähemaid lehti fotosünteesiliselt võimekamaks muuta. Erinevalt käesoleva töö tulemustest on õhuniiskusega manipuleerimise katses FAHM varem näidatud, et niisutusringide lehed sisaldavad vähem lämmastikku pinnaühiku kohta, mida varasemalt on seostatud sellega, et vähenenud transpiratsiooni tagajärjel väheneb NO_3^- massivool juurte juurde ning sellega seoses väheneb taime lämmastiku omastamine mullast (Tullus et al., 2012; Parts et al., 2013). VPD_L ehk veeauru rõhkude vahe lehe sees ja välisõhus, mis on transpiratsiooni liikuma panevaks jõuks, on kõrgema õhuniiskuse tõttu niisutusringides enamasti madalam. Sellest tulenevalt on ka transpiratsioon lehepinnalt väiksem, mistõttu väheneb toitainete vool taimes. Samas on FAHM katsealal leitud, et puud, mis kasvavad kõrgendatud õhuniiskuse tingimustes, kasvatavad pikemaid ja peenemaid juuri ning selline morfoloogiline eripära võiks lämmastiku kättesaamist mõningal määral parandada (Parts et al., 2013). Siiski viitab meie tavapärasest erinev tulemus, et mingi väline faktor, nagu näiteks kõrge lehekahjustuste protsent konkreetsel aastal võis oluliselt mõjutada lämmastiku paigutust lehtedes.

Kuigi klorofüll- ja lämmastiku sisaldus lehes pinnaühiku kohta enamasti korreleeruvad, muutub kasvuperioodi jooksul nende kahe parameetri omavaheline suhe. Klorofüll- ja lämmastiku suhe oli juuli teisest poolest alates suurem niisutusringides. Augusti alguses Klorof/N suhe taimedes vähenes, kuid niisutusringides paigutati jätkuvalt proportsionaalselt rohkem lämmastikku fotosünteesiapparaati kui kontrollringides. Suurema õhuniiskuse tingimustes saavad taimed oma õhulõhed lahti hoida ning süsihappegaas ei ole fotosünteesil limiteerivaks faktoriks ning taimedel on võimalik fotosünteesilist aktiivsust suurendada, paigutades rohkem lämmastikku fotosünteesiapparaati. Teisalt, suurenenud õhu- ja mullaniiskuse tingimustes, kui toitainete omastamine mullast on häiritud ning taimes võib tekkida lämmastikupuudus, paigutatakse taimes samuti suurem osa lämmastikust fotosünteesiapparaati (Qing et al., 2012).

Klorof/N suhte langus augusti alguses võib tuleneda sellest, et taimes on lehed suureks kasvanud, valguspüügi kompleksid on piisavalt efektiivsed, ergastust püütakse üleliia, mistõttu võib tekkida puudus karboksüleerimisvalkudest (Ripullone et al., 2003) ja lämmastikku hakatakse paigutama eelistatult neisse ühenditesse. Näiteks RuBisCO on üks karboksüleerimisvalk, mis limiteerib kogu taimes fotosünteesi võimekust, kuna see katalüüsib fotoüsnteesi lõpp-astet, mille tulemusena tekivad suhkrud (Makino, 2003; Raines, 2003). RuBisCO sisaldus lehes ja fotosünteesiline aktiivsus on positiivses suhtes lehe lämmastikuisaldusega pinnaühiku kohta ning lämmastikupuuduse käes paigutatakse rohkem lämmastikku RuBisCO-sse (Qing et al., 2012).

4.3. Lehestiku klorofüllil ja lämmastiku sõltuvus mulla vee- ja lämmastikuisaldusest

Hübriidhaava puhul oli niisutusringide lehestikus keskmiselt vähem klorofüllil ja lämmastikku puu kohta (mg). Lehestiku klorofüllil- ja lämmastikuisaldused (mg) puu kohta sõltusid oluliselt mulla veesisaldusest, kuid ei sõltunud mulla lämmastikuisaldusest, kuigi varasemalt on leitud, et suurem mulla lämmastikuisaldus võiks lehestiku lämmastiku sisaldust ja fotosünteesivõimet suurendada (Jose et al., 2003), seda ka liigniiskuse tingimustes (Wang et al., 2012b). Suurema mulla veesisalduse juures oli lehestikus keskmiselt klorofüllil- ja lämmastikku (mg) vähem. Oma töös eeldasime, et optimaalse veesisalduse juures, milleks varasemalt FAHM katsealal hübriidhaava puhul on pakutud 60-70% (Sõber et al., 2015), võiks klorofüllil ja lämmastiku sisaldus lehes ja ka lehestikus olla suurim. Vaadates tulemusi, selgus, et hübriidhaava lehestikus oli klorofüllil ja lämmastiku sisaldus küll kõrgem, kui mulla veesisaldus oli madalam (u 60%), kuid puuduvad andmed, milline oleks lehestiku klorofüllil- ja lämmastiku- kogus puu kohta sellest madalama veesisalduse juures.

4.4. Lehe klorofüllil ja lämmastiku sõltuvus niiskusest ja mulla lämmastikuisaldusest

Kuigi varasemalt on leitud, et mulla vee- ja lämmastikuisaldusel on oluline roll taime kasvule ja fotosünteesile (Wang et al., 2012b), ei leidunud käesolevas töös kontrollringides mulla lämmastikuisalduse ja lehe klorofüllil- ning lämmastikuisalduse (mg/cm^2) vahel olulist seost. Seevastu oli niisutusringides kõrgema mulla lämmastikuisalduse juures ka suurem lehe klorofüllil- ja lämmastikuisaldus pinnaühiku kohta (mg/cm^2). Taimed omastavad mullast mineraallämmastikku peamiselt nitraadi ja ammooniumina (Miller & Cramer, 2005). FAHM katsealal on kontrollringides keskmiselt 65% taimedele kättesaadavast lämmastikust nitraadina ja 35% ammooniumina. Seevastu niisutusringides on 50% lämmastikust nitraadina ja 50% ammooniumina ehk niisutusringides on nitraadi osakaal väiksem (Lõhmus K. avaldamata andmed). Kuna $\text{NH}_4^+\text{-N}$ on taimede poolt raskemini omastatav lämmastik kui $\text{NO}_3^-\text{-N}$ (Zhou et al., 2011), siis võib arvata, et ka lämmastikuühendite kompositsiooni iseärasus niisutusringides raskendab lämmastiku kättesaamist mullast, ning tõsise N-puudujäägi olukorras tuleb selgemini välja ka mulla lämmastikuisalduse mõju lehe lämmastikule. Ilmselt on ka niisutusringide keskmiselt väiksem lehestiku pindala seotud sellega, et niisutusringides on väiksem NO_3^- sisaldus kui kontrollringides. Samas võib niisutusringides esile tulev mulla lämmastikuisalduse ja lehtede lämmastikuisalduse seos viidata ka sellele, et mulla üldlämmastiku sisaldus peegeldab tegelikku lämmastiku kättesaadavust pigem ebaoptimaalse mulla veesisalduse tingimustes.

Suurema mulla veesisalduse juures oli lämmastiku ja klorofüllil sisaldus (mg/cm^2) lehes väiksem, mis sarnaneb varasemate tööde tulemustega (Close & Davidson, 2003), kuigi mõneti vastuoluliselt niiskemas õhus kasvanud lehtede lämmastikuisaldus pinnaühiku kohta oli pigem suurem. Lehe klorofüllil ja lämmastiku sisalduse (mg/cm^2) vähenemine niiskema mullaga keskkonnas võib sarnaselt lehestiku klorofüllil- ja lämmastikuisaldusele (mg) olla seotud limiteeritud toitainete omastamisega mullast (Kupper et al., 2011; Sellin et al., 2013). Kuid ilmselt viitab niiskema õhu vastupidine mõju mingitele teistele mullaniiskusega mitte seotud stressifaktoritele, ehk siis tõenäoliselt suuremale lehekahjustuste protsendile niisutusringides. Lehe klorofüllil ja lämmastiku sisaldus

pinnaühiku kohta oli suurim eeldatavast optimaalsest mullaniiskusest tunduvalt madalama mullaniiskuse olukorras (mulla veesisaldus 45%), mis erines meie eeldusest, et suurim klorofüll ja lämmastiku sisaldus ning vastavalt ka suurim fotosünteesi võimekus lehes on 60-70% mulla veesisalduse juures.

Klorof/N suhe, mis näitab, kui palju lämmastikust paigutatakse valguspüügi-kompleksidesse, ei sõltunud kontrollringides oluliselt mulla lämmastikueesisaldusest. Niisutusringides oli klorofüll ja lämmastiku suhte ja mulla lämmastikueesisalduse vahel nõrk seos olemas ning kõrgema mulla lämmastikueesisalduse juures oli klorofüll ja lämmastiku suhe natuke suurem. Lämmastikupuuduse olukorras väheneb lämmastiku omastamine (Gao et al., 2015), mis võib põhjustada klorofüll ja lämmastiku vähenemist taimes ja fotosünteesilise aktiivsuse vähenemist (Boussadia et al., 2010). Kuid sarnaselt meie kontrollringide tulemustele on ka varasemalt leitud, et sageli mulla lämmastikueesisalduse suurendamine ei mõjuta väga oluliselt fotosünteesi efektiivsust (Wang et al., 2012a). Tugevam seos oli mulla veesisalduse ning klorofüll ja lämmastiku suhte vahel. Mõlema töötluse puhul oli Klorof/N väiksem, kui mulla veemahutavus väliveemahutavusest (%) oli väike. Suurema veesisalduse juures investeeriti proportsionaalselt rohkem lämmastikku valguspüügi efektiivsuse tõstmisesse. Tõenäoliselt on see vastus veestressile ja madalale lehe lämmastikueesisaldusele niiskematel muldadel kasvanud lehtedes, püüdmaks optimeerida piiratud ressursside kasutamist.

Kokkuvõte

Seoses kliimamuutustega prognoositakse kõrgematel laiuskraadidel sademete hulga ja õhuniiskuse suurenemist. Antud töö raames analüüsiti FAHM (*Free Air Humidity Manipulation*) katsealal kogutud andmete põhjal, milline on suurenenud õhu- ja mullaniiskuse mõju lehtede klorofüll- ja lämmastiksisaldusele ning lämmastikukasutuse strateegiale.

Tulemustest selgus, et kasvuperioodi vältel oli niiskemas õhus kasvanud puudel ühes lehes keskmiselt kõrgem lämmastiku- ja klorofüllisisaldus lehepinna kohta, kuid kogu lehestikus oli puu kohta keskmiselt rohkem klorofüll ja lämmastikku just madalama õhuniiskusega aladel. Klorofüll ja lämmastiku suhe oli suurem kõrgema õhuniiskuse tingimustes kasvanud lehtedes, mis näitab, et neis paigutati proportsionaalselt rohkem lämmastikku valguspüügi kompleksidesse, muutmaks pindalalt väiksemaid või arvult vähesemaid lehti fotosünteesiliselt efektiivsemaks.

Lehe keskmine lämmastiksisaldus oli suurim, kui mulla veesisaldus oli väiksem, samuti oli kogu lehestiku lämmastiksisaldus puu kohta suurim madala mullaniiskuse tingimustes ning käesolev töö ei leidnud kinnitust eeldusele, et optimaalse mulla veesisalduse puhul on lehtede ja lehestiku lämmastiksisaldus maksimaalne. Klorofüll ja lämmastiku suhe lehes seevastu suurenes mulla veesisalduse kasvuga, mis viitab sarnasele lämmastikukasutuse strateegiale, nagu kõrgema õhuniiskuse tingimustes kasvanud lehtede puhul nägime.

Mulla lämmastiksisalduse mõju taimede lämmastikukasutuse strateegiale tuli paremini esile niiskemas õhus kasvanud puude puhul. Tõenäoliselt peegeldab mulla üldlämmastiku sisaldus tegelikku lämmastiku kättesaadavust pigem ebaoptimaalse mulla veesisalduse tingimustes

Does optically measured nitrogen allocation in Hybrid Aspen (*Populus tremula* L. × *P. tremuloides* Michx.) depend on air humidity and soil moisture?

Marge Sepp

Summary

Climate change is predicted to increase air humidity and precipitation in Northern latitudes. We collected data from *Free Air Humidity Manipulation* experimental facility (FAHM) and investigated the effect of increased air humidity and soil moisture on chlorophyll and nitrogen content and nitrogen allocation in leaves of Hybrid Aspen (*Populus tremula* L. × *P. tremuloides* Michx.).

Hybrid Aspen responded to more humid conditions by increasing leaf chlorophyll and nitrogen content per unit leaf area, while the foliage chlorophyll and nitrogen content per tree was smaller in humid plots than in control pots. We also found that the Chl/N ratio was higher in humidified conditions, which indicates that in humid conditions trees allocate more nitrogen into light harvesting complexes, to increase the photosynthetic efficiency of smaller or less numbered leaves.

The average nitrogen content per leaf area and per whole foliage was higher in less moist soil conditions. As such, we did not find highest chlorophyll and nitrogen concentrations per unit leaf area and per tree at predicted optimal soil moisture conditions. Chl/N ratio, on the other hand, increased at higher soil moisture conditions, implying on

The effect of soil nitrogen content to a plant nitrogen concentration and allocation was more pronounced in trees, grown at more humid air. Thus it is probable that total soil nitrogen content reflects differences in actual nitrogen availability mainly in suboptimal moisture conditions.

Tänuavaldused

Täna siiralt oma juhendajat Pille Mändi, igakülgse abi, toetuse ja nõuannete eest. Lisaks soovin tänada Ingmar Tulvat, kes aitas lehe klorofüllisisalduse mõõtmistega ning jagas lõputööle konstruktiivset kriitikat. Tänuõnad lähevad ka Krista Lõhmusele, kes aitas andmeanalüüsiga ning Piret Põldmäele, kes aitas keelelise poolega. Töö valmis IUT34-9 "Metsaökosüsteemide kohanemine suureneva õhuniiskuse ja kaasnevate keskkonnateguritega (1.01.2015–31.12.2020)" projekti raames.

Kasutatud kirjandus

- Agüera, E., Cabello, P., & de la Haba, P. 2010.** Induction of leaf senescence by low nitrogen nutrition in sunflower (*Helianthus annuus*) plants. *Physiologia Plantarum*, 138(3), 256–267.
- Arve, L. E., Terfa, M. T., Gislerød, H. R., Olsen, J. E., & Torre, S. 2013.** High relative air humidity and continuous light reduce stomata functionality by affecting the ABA regulation in rose leaves. *Plant, Cell and Environment*, 36(2), 382–392.
- Bermudez, R., & Retuerto, R. 2014.** Together but different: Co-occurring dune plant species differ in their water- and nitrogen-use strategies. *Oecologia*, 174(3), 651–663.
- Bond, B. J., Farnsworth, B. T., Coulombe, R. A., & Winner, W. E. 1999.** Foliage physiology and biochemistry in response to light gradients in conifers with varying shade tolerance. *Oecologia*, 120(2), 183–192.
- Bondada, B. R., & Syvertsen, J. P. 2003.** Leaf chlorophyll, net gas exchange and chloroplast ultrastructure in citrus leaves of different nitrogen status. *Tree Physiology*, 23(8), 553–559.
- Boussadia, O., Steppe, K., Zgallai, H., Ben El Hadj, S., Braham, M., Lemeur, R., & Van Labeke, M. C. 2010.** Effects of nitrogen deficiency on leaf photosynthesis, carbohydrate status and biomass production in two olive cultivars “Meski” and “Koroneiki”. *Scientia Horticulturae*, 123(3), 336–342.
- Bradstreet, R. 1965.** The Kjeldahl method for organic nitrogen. New York: Academic Press: 1–7.
- Catoni, R., Granata, M. U., Sartori, F., Varone, L., & Gratani, L. 2014.** *Corylus avellana* responsiveness to light variations: morphological, anatomical, and physiological leaf trait plasticity. *Photosynthetica*, 53(1), 35–46.
- Close, D. C., & Davidson, N. J. 2003.** Long-term waterlogging: Nutrient, gas exchange, photochemical and pigment characteristics of *Eucalyptus nitens* saplings. *Russian Journal of Plant Physiology*, 50(6), 843–847.
- Cramer, M. D., Hawkins, H.-J., & Verboom, G. A. 2009.** The importance of nutritional regulation of plant water flux. *Oecologia*, 161(1), 15–24.

- Evans, J. R., & Poorter, H. 2001.** Photosynthetic acclimation of plants to growth irradiance: The relative importance of specific leaf area and nitrogen partitioning in maximizing carbon gain. *Plant, Cell and Environment*, 24(8), 755–767.
- Fanourakis, D., Carvalho, S. M. P., Almeida, D. P. F., & Heuvelink, E. 2011.** Avoiding high relative air humidity during critical stages of leaf ontogeny is decisive for stomatal functioning. *Physiologia Plantarum*, 142(3), 274–286.
- Gao, K., Chen, F., Yuan, L., Zhang, F., & Mi, G. 2015.** A comprehensive analysis of root morphological changes and nitrogen allocation in maize in response to low nitrogen stress. *Plant, Cell & Environment*, 38(4), 740–750.
- Haynes, R. 1986.** Mineral nitrogen in the plant-soil system. Orlando: Academic Press: 25; 32; 85.
- Huang, S., Greenway, H., & Colmer, T. D. 2003.** Responses by coleoptiles of intact rice seedlings to anoxia: K⁺ net uptake from the external solution and translocation from the caryopses. *Annals of Botany*, 91(2), 271–278.
- Häikiö, E., Freiwald, V., Silfver, T., Beuker, E., Holopainen, T., & Oksanen, E. 2007.** Impacts of elevated ozone and nitrogen on growth and photosynthesis of European aspen (*Populus tremula*) and hybrid aspen (*P. tremula* × *Populus tremuloides*) clones. *Canadian Journal of Forest Research*, 37(11), 2326–2336.
- Högberg, P., Fan, H., Quist, M., Binkley, D., & Tamm, C. O. 2006.** Tree growth and soil acidification in response to 30 years of experimental nitrogen loading on boreal forest. *Global Change Biology*, 12(3), 489–499.
- IPCC: Climate Change 2013.** The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. [Stocker T.F., Qin D., Plattner G.-K., Tignor M., Allen S.K., Boschung J., Nauels A., Xia Y., Bex V., and Midgley P.M. (eds.)], Cambridge University Press, Cambridge and New York, 1–29.
- Jinwen, L., Jingping, Y., Pinpin, F., Junlan, S., Dongsheng, L., Changshui, G., & Wenye, C. 2009.** Responses of rice leaf thickness, SPAD readings and chlorophyll a/b ratios to different nitrogen supply rates in paddy field. *Field Crops Research*, 114(3), 426–432.

- Jose, S., Merritt, S., & Ramsey, C. L. 2003.** Growth, nutrition, photosynthesis and transpiration responses of longleaf pine seedlings to light, water and nitrogen. *Forest Ecology and Management*, 180(1-3), 335–344.
- Kergoat, L., Lafont, S., Arneth, A., Le Dantec, V., & Saugier, B. 2008.** Nitrogen controls plant canopy light-use efficiency in temperate and boreal ecosystems. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences*, 113(4).
- Kimura, K., Ishida, A., Uemura, A., Matsumoto, Y., & Terashima, I. 1998.** Effects of current-year and previous-year PPFDs on shoot gross morphology and leaf properties in *Fagus japonica*. *Tree Physiology*, 18(7), 459–466.
- Kozlowski T. T. & Pallardy S. G. 1997.** *Physiology of Woody Plants* (Second edition). San Diego, Academic Press: 271; 274.
- Kunkle, J. M., Walters, M. B., & Kobe, R. K. 2009.** Senescence-related changes in nitrogen in fine roots: Mass loss affects estimation. *Tree Physiology*, 29(5), 715–723.
- Kupper, P., Söber, J., Sellin, A., Löhmus, K., Tullus, A., Räim, O. & Söber, A. 2011.** An experimental facility for free air humidity manipulation (FAHM) can alter water flux through deciduous tree canopy. *Environmental and Experimental Botany*, 72(3), 432–438.
- Liang, M., Sugimoto, A., Tei, S., Bragin, I. V., Takano, S., Morozumi, T., & Ignatiev, A. V. 2014.** Importance of soil moisture and N availability to larch growth and distribution in the Arctic taiga-tundra boundary ecosystem, northeastern Siberia. *Polar Science*, 8(4), 327–341.
- Liu, B., Rennenberg, H., & Kreuzwieser, J. 2015.** Hypoxia affects nitrogen uptake and distribution in young poplar (*populus × canescens*) trees. *PLoS ONE*, 10(8), 1–21.
- Liu, Z. A., Yang, J. P., & Yang, Z. C. 2012.** Using a chlorophyll meter to estimate tea leaf chlorophyll and nitrogen contents. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 12(122), 339–348.
- Maathuis, F. J. 2009.** Physiological functions of mineral macronutrients. *Current Opinion in Plant Biology*, 12(3), 250–258.

- Madhavan, S., Paranidharan, V., & Velazhahan, R. 2011.** Foliar application of Burkholderia sp. strain TNAU-1 leads to activation of defense responses in chilli (*Capsicum annuum* L.). Brazilian Journal of Plant Physiology, 23(4), 261–266.
- Makino, A. 2003.** Rubisco and nitrogen relationships in rice: Leaf photosynthesis and plant growth. Soil Science and Plant Nutrition, 49(3), 319–327.
- Mediavilla, S., Escudero, A., & Heilmeyer, H. 2001.** Internal leaf anatomy and photosynthetic resource-use efficiency: interspecific and intraspecific comparisons. Tree Physiology, 21(4), 251–259.
- Miidla, H. 1984.** Taimefüsioloogia. M. Viikmaa (Toim.). Tallinn: Valgus: 126.
- Miller, A. J., & Cramer, M. D. 2005.** Root nitrogen acquisition and assimilation. Plant and Soil 247(1-2), 1-36.
- Niglas, A., Kupper, P., Tullus, A., & Sellin, A. 2014.** Responses of sap flow, leaf gas exchange and growth of hybrid aspen to elevated atmospheric humidity under field conditions. AoB PLANTS, 6, 1–14.
- Nikolaeva, M. K., Maevskaya, S. N., Shugaev, a. G., & Bukhov, N. G. 2010.** Effect of drought on chlorophyll content and antioxidant enzyme activities in leaves of three wheat cultivars varying in productivity. Russian Journal of Plant Physiology, 57(1), 87–95.
- Nilsen, E.T. & Orcutt, D.M. 1996.** The physiology of plants under stress. New York [etc.]: John Wiley & sons: 232; 333-377
- Onoda, Y., Hikosaka, K., & Hirose, T. 2004.** Allocation of nitrogen to cell walls decreases photosynthetic nitrogen-use efficiency. Functional Ecology, 18(3), 419–425.
- Parts, K., Tedersoo, L., Lõhmus, K., Kupper, P., Rosenthal, K., Sõber, A., & Ostonen, I. 2013.** Increased air humidity and understory composition shape short root traits and the colonizing ectomycorrhizal fungal community in silver birch stands. Forest Ecology and Management, 310, 720–728.

- Percival, G. C., & Keary, I. P. 2008.** The Influence of Nitrogen Fertilization on Waterlogging Stresses in *Fagus sylvatica* L. and *Quercus robur* L. *Arboriculture and Urban Forestry*, 34(1), 29.
- Pessarakli, M. 2005.** Handbook of photosynthesis. Boca Raton, FL: Taylor & Francis: 719-794.
- Pompelli, M. F., Martins, S. C. V, Antunes, W. C., Chaves, A. R. M., & DaMatta, F. M. 2010.** Photosynthesis and photoprotection in coffee leaves is affected by nitrogen and light availabilities in winter conditions. *Journal of Plant Physiology*, 167(13), 1052–1060.
- Poorter, H., Niinemets, U., Poorter, L., Wright, I. J., & Villar, R. 2009.** Causes and consequences of variation in leaf mass per area (LMA):a meta-analysis. *New Phytologist*, 182, 565–588.
- Porra, R. J., W. A. Thompson, and P. E. Kriedemann. 1989.** Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochimica et Biophysica Acta* 975(3), 384–394.
- Qing, H., Cai, Y., Xiao, Y., Yao, Y., & An, S. 2012.** Leaf nitrogen partition between photosynthesis and structural defense in invasive and native tall form *Spartina alterniflora* populations: Effects of nitrogen treatments. *Biological Invasions*, 14(10), 2039–2048.
- Raines, C. A. 2003.** The Calvin cycle revisited. *Photosynthesis research*, 75(1), 1-10.
- Rennenberg, H., Loreto, F., Polle, A., Brilli, F., Fares, S., Beniwal, R. S., & Gessler, A. 2006.** Physiological responses of forest trees to heat and drought. *Plant Biology*, 8(5), 556–571.
- Ripullone, F., Grassi, G., Lauteri, M., & Borghetti, M. 2003.** Photosynthesis-nitrogen relationships: interpretation of different patterns between *Pseudotsuga menziesii* and *Populus x euroamericana* in a mini-stand experiment. *Tree Physiology*, 23(2), 137–144.
- Ryan, M. G., & Yoder, B. J. 1997.** Hydraulic limits to tree height and tree growth: what keeps trees from growing beyond a certain height? *BioScience*, 47(4), 235–242.

- Schlemmer, M., Gitelson, A., Schepersa, J., Fergusona, R., Peng, Y., Shanahana, J., & Rundquist, D. 2013.** Remote estimation of nitrogen and chlorophyll contents in maize at leaf and canopy levels. *International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation*, 25(1), 47–54.
- Sellin, A., Tullus, A., Niglas, A., Õunapuu, E., Karusion, A., & Lõhmus, K. 2013.** Humidity-driven changes in growth rate, photosynthetic capacity, hydraulic properties and other functional traits in silver birch (*Betula pendula*). *Ecological Research*, 28(3), 523–535.
- Shabala, S. 2012.** Plant stress physiology. Cambridge, MA: CABI: 155
- Silla, F., & Escudero, A. 2003.** Uptake, demand and internal cycling of nitrogen in saplings of Mediterranean *Quercus* species. *Oecologia*, 136(1), 28–36.
- Smethurst, C. F., Garnett, T., & Shabala, S. 2005.** Nutritional and chlorophyll fluorescence responses of lucerne (*Medicago sativa*) to waterlogging and subsequent recovery. *Plant and Soil*, 270(1), 31–45.
- Smethurst, C. F., & Shabala, S. 2003.** Screening methods for waterlogging tolerance in lucerne: Comparative analysis of waterlogging effects on chlorophyll fluorescence, photosynthesis, biomass and chlorophyll content. *Functional Plant Biology*, 30(3), 335–343.
- Sõber, A., Mänd, P., Sell, M., Sepp, M., Kupper, P., Sõber, J., Kukumägi, M., & Lõhmus, K. 2015.** Rising Soil Water Content Can Change the Direction of Humidity Effect on Tree Growth. The Estonian Centre of Excellence in Environmental Adaptation ENVIRON. Final Conference. Abstract Book. Tartu. 46–47.
- Zhou, Y., Zhang, Y., Wang, X., Cui, J., Xia, X., Shi, K., & Yu, J. 2011.** Effects of nitrogen form on growth, CO assimilation, chlorophyll fluorescence, and photosynthetic electron allocation in cucumber and rice plants. *Journal of Zhejiang University-Science. B*, 12(2), 126–134.
- Taiz, L. & Zeiger, E. 2010.** Plant physiology (5th edition). Sunderland, Massachusetts: Sinauer: 98-99; 189-190; 201; 757-758; 765.

- Takashima, T., Hikosaka, K., & Hirose, T. 2004.** Photosynthesis or persistence: Nitrogen allocation in leaves of evergreen and deciduous *Quercus* species. *Plant, Cell and Environment*, 27(8), 1047–1054.
- Tullus, A., Kupper, P., Sellin, A., Parts, L., Söber, J., Tullus, T., & Tullus, H. (2012).** Climate change at Northern latitudes: Rising atmospheric humidity decreases transpiration, N-uptake and growth rate of hybrid aspen. *PLoS ONE*, 7(8).
- Tullus, A., Sellin, A., Kupper, P., Lutter, R., Pärn, L., Jasinska, A. K., & Söber, A. 2014.** Increasing air humidity - A climate trend predicted for northern latitudes - Alters the chemical composition of stemwood in silver birch and hybrid aspen. *Silva Fennica*, 48(4).
- Wang, A.-F., Roitto, M., Lehto, T., Zwiazek, J., Calvo-Polanco, M., & Repo, T. 2013.** Waterlogging under simulated late-winter conditions had little impact on the physiology and growth of Norway spruce seedlings. *Annals Of Forest Science*, 70(8), 781–790. **(a)**
- Wang, D., Maughan, M. W., Sun, J., Feng, X., Miguez, F., Lee, D., & Dietze, M. C. 2012.** Impact of nitrogen allocation on growth and photosynthesis of *Miscanthus* (*Miscanthus x giganteus*). *GCB Bioenergy*, 4(6), 688–697. **(a)**
- Wang, L., Ibrom, A., Korhonen, J. F. J., Arnoud Frumau, K. F., Wu, J., Pihlatie, M., & Schjoerring, J. K. 2013.** Interactions between leaf nitrogen status and longevity in relation to N cycling in three contrasting European forest canopies. *Biogeosciences*, 10(2), 999–1011. **(b)**
- Wang, M., Shi, S., Lin, F., Hao, Z., Jiang, P., & Dai, G. 2012.** Effects of soil water and nitrogen on growth and photosynthetic response of Manchurian Ash (*Fraxinus mandshurica*) seedlings in Northeastern China. *PLoS ONE*, 7(2). **(b)**
- Xu, Z. Z., & Zhou, G. S. 2006.** Nitrogen metabolism and photosynthesis in *Leymus chinensis* in response to long-term soil drought. *Journal of Plant Growth Regulation*, 25(3), 252–266.
- Xue, W., Nay-Htoon, B., Lindner, S., Dubbert, M., Otieno, D., Ko, J., & Tenhunen, J. 2016.** Soil water availability and capacity of nitrogen accumulation influence variations of intrinsic water use efficiency in rice. *Journal of Plant Physiology*, 193, 26–36.

LISA 1.

Lehe parameetrite sõltuvus mulla lämmastiku- ja veesisaldusest (%). Tabelis on näidatud regressioonanalüüsi olulisuse tõenäosuse (p) ja determinatsioonikordaja (R²) väärtused. Statistiliselt mitte olulised tulemused on tabelis tähistatud „n.s“, p väärtus <0,05 märgib statistiliselt olulist seost.

		Mulla lämmastikuisaldus (%)		1 nädal varasem mulla veesisaldus väliveemahutavusest (%)	
Lehe tunnus	Töötlus	R ²	p	R ²	p
Klorofüll (mg/cm ²)	C	0,8%	0,019	4,6%	<0,001
	H	6,2%	<0,001	3,5%	<0,001
Lämmastik (mg/cm ²)	C	0,4%	n.s	23,4%	<0,001
	H	3,6%	<0,001	21,1%	<0,001
Klorof/N suhe	C	0,5%	0,048	7,4%	<0,001
	H	5,0%	<0,001	10,8%	<0,001

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Marge Sepp (23.10.1992),

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose „Kas optiliselt hinnatud lämmastiku paigutus hübriidhaava (*Populus tremula* L. × *P. tremuloides* Michx.) lehes sõltub õhu- ja mullaniiskusest?“, mille juhendaja on PhD Pille Mänd,
 - 1.1. reprodutseerimiseks säilitamise ja üldsusele kättesaadavaks tegemise eesmärgil, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace-is lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;
 - 1.2. üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tartu Ülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace'i kaudu kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.
2. olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.
3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Tartus, 20.05.2016